

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การตรวจหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในพืชสมุนไพร

12 ชนิด

ชื่อผู้เขียน

นางสาววัชรี สุภาอินทร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร. คำรัส ทรัพย์เย็น

ประธานกรรมการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ไมตรี สุทธิจิตต์

กรรมการ

อาจารย์ สุวิวงค์ ลิปิกุโกรกุล

กรรมการ

บทคัดย่อ

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสมุนไพรได้รับการศึกษามานานแล้ว จนเป็นที่แพร่หลาย อย่างไรก็ตามองค์ประกอบที่สำคัญยังไม่ได้ศึกษาอย่างชัดเจน ในการวิจัยครั้งนี้ได้นำพืชสมุนไพร 12 ชนิด คือ มะระขึ้นก, กระชาย, กระเทียม, ขมิ้นชัน, ผักกาดทอง, ฟ้าทะลายโจร, เสลดพังพอนตัวเมีย, กล้วยน้ำว้า, ชุมเห็ดเทศ, ทองพันชั่ง, บัวบกและน่องเพ็ค มาสกัดด้วย 95 % เอทานอล และได้คลอโรมีเซน ตามลำดับ แล้วนำสารสกัดลงกล่าวมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 8 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* sp386, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* U555, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* U514 และ *Salmonella enteritidis* group B ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยอดส์โดยวิธี Disc diffusion method แบคทีเรีย 3 ชนิดแรกเป็น gram-positive strain แบคทีเรียอีก 5 ชนิด เป็น gram-negative strain พบว่าสมุนไพรทั้ง 12 ชนิด ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด gram-negative strain และมีพืชสมุนไพร 9 ชนิด คือ มะระขึ้นก, กระชาย, กระเทียม, ฟ้าทะลายโจร, กล้วยน้ำว้า, ชุมเห็ดเทศ, ทองพันชั่ง, บัวบก และ น่องเพ็ค มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ชนิด gram-positive strain ส่วนสมุนไพรอีก 3 ชนิดคือขมิ้นชัน ผักกาดทอง และเสลดพังพอนตัวเมีย ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อชนิดใดเลย เมื่อหาค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) ของสารสกัดทุกชนิดของสมุนไพร พบว่าชุมเห็ดเทศมีค่า MIC ต่ำสุด เชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (0.06 mg.), *Staphylococcus aureus* sp386 (0.03 mg.), และ *Streptococcus pneumoniae* (0.5 mg.) สูงที่สุดตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดทุกชนิดจากสมุนไพร 9 ชนิด มาแยกโดยโครมาโทกราฟผิวบาง ได้ແเกบมีสีที่ม่องเห็นได้ 3

แบบ มาทดสอบฤทธิ์ขับยั่งเชื้อแบคทีเรีย พบว่า แบบที่ 1 ของนอร์เพ็คและกระชาย ไม่มีฤทธิ์ขับยั่ง เชื้อแบคทีเรียทุกชนิด, แบบที่ 1 ของมะรืนก และแบบที่ 2 และ 3 ของนอร์เพ็คและกระชาย ไม่มีฤทธิ์ขับยั่งเชื้อแบคทีเรียเฉพาะชนิด *Streptococcus pneumoniae* เมื่อหาค่า MIC พบว่าพืชสมุนไพร 9 ชนิด คือ มะรืนก, กระเทียม, ฟ้าทะลายโจร, กล้วยน้ำว้า, ชุมเห็ดเทศ, บอร์เพ็ค, กระชาย, ทองพันชั่ง และ บัวก มีค่า MIC อยู่ในเกลอนที่ตี มีองค์ประกอบที่ 9 ชนิด มาวิเคราะห์โดย TLC-bioassay ด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Serratia marcescens* พบว่า มะรืนกมีแบบต้านเชื้อแบคทีเรียกว้างและ ชัดเจน คือ ที่ $R_f \approx 0.13 - 0.30$ และตรงกับแบบที่ 1 ของการสกัดโดยโครมาโตกราฟผิวบาง เมื่อทำการสกัดแบบต้านเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมาทำให้บริสุทธิ์ โดยการแยกสารสำคัญโดยทำ preparative TLC ซ้ำอีก 3 ครั้ง โดยใช้ตัวพาเดิม ได้สาร II ซึ่งนำมาวิเคราะห์โดยแก๊ส โครมาโตกราฟ-แมสสเปกโตรมิเตอร์ พบว่า สาร II อาจจะเป็น hexadecanoic acid สรุปได้ว่าพืชสมุนไพร จำนวน 9 ชนิดใน 12 ชนิด ที่นำมาศึกษาสามารถขับยั่งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ อย่างไรก็ตาม สารสำคัญที่พบในมะรืนกและสมุนไพรอื่นๆ ควรจะมีการศึกษาต่อไปในอนาคต

Thesis Title Identification of Antibacterial Compounds in Twelve Medicinal Herbs

Author Miss Watcharee Supa-in

M.S. Chemistry

Examining Committee Dr. Damrat Supyen Chairman
Assoc. Prof. Dr. Mitree Sutajit Member
Lecturer Suwiwek Lipigormgson Member

Abstract

Antibacterial activity of Thai medicinal herbs have been studied and well known. However, the active antibacterial compounds in such herbs are still not yet identified. In this study, twelve medicinal herbs. i.e, *Momordica Charantia* Linn. (Bitter Cucumber), *Baesenbergia rotunda* (Linn). Mansf., *Allium Sativum* Linn., *Curcuma Ienga* Linn., *Houttuynia cordata* Thumb., *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees., *Chinacanthus nutans* (Burm.f) Lindau., *Musa ABB group* (triploid) cv., *Cassia alata* Linn., *Rhinacanthus nasutus* (Linn.) Kurz., *Centella asiatica* (Linn.) Uban and *Tinospora crispa* (Linn.) were extracted with 95 % ethanol and back extracted into dichloromethane. The testing bacteria strains *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* sp386, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* U555, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* U514 and *Salmonella enteritidis* group B were isolated form AIDS pateints. The first three strains of bacteria are gram-positive and others are gram-negative. The extracts were used to study antibacterial effect by the disc diffusion method. The results showed that none of Thai medicinal herbs had antibacterial activity against gram-negative strains. Nine medicinal herbs such as *Momordica Charantia* Linn. (Bitter Cucumber), *Baesenbergia rotunda* (Linn). Mansf., *Allium Sativum* Linn., *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees., *Musa ABB group* (triploid) cv., *Cassia alata* Linn., *Rhinacanthus nasutus* (Linn.) Kurz., *Centella asiatica* (Linn.) Uban and *Tinospora*

crispa (Linn.) show antibacterial activity on gram-positive strain . On the other hand, three medicinal herbs. *Curcuma Ienga* Linn., *Houttuynia cordata* Thunb., and *Chinacanthus nutans* (Burm.f) Lindau could not inhibit the growth of all bacteria strains including gram-positive and gram-negative strains. According to minimum inhibitory concentration (MIC) assay, *Cassia alata* Linn. had the highest activity for *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (0.06 mg.), *Staphylococcus aureus* sp386 (0.03 mg.), and *Streptococcus pneumoniae* (0.5 mg.), respectively. The crude extracts from all nine herbs were separated by Thin Layer Chromatography (TLC) in each herb which were separated into 3 colored bands. The antibacterial effect of each band studied by disc diffusion method . Band number 1 of *Tinospora crispa* (Linn.) and *Baesenbergia rotunda* (Linn). Mansf could not inhibit all of bacterial strains. In addition, band number 1 of *Momordica Charantia* Linn. (Bitter Cucumber), and band number 2 and number 3 of *Tinospora crispa* (Linn.) and *Baesenbergia rotunda* (Linn). also could not inhibit the growth of *Streptococcus pneumoniae*. According to MIC method, the nine herbs also showed the very low MIC (0.06-2 mg) . The nine crude extracts(N=9) . were analyzed by TLC-bioassay [silica gel, hexane : ethyl acetate : methanol; (60 : 40 : 1)] using the bacteria *Serratia marcescens*. It was found that broad inhibition clear zones at $R_f \approx 0.13-0.30$ which was similar to band number 1 of the preparative thin layer chromatography (PTLC). The compounds in these zones were extracted and purified by 3-time repeated PTLC using the same developing solvents giving the compound II. This definite compound was finally analyzed by gas chromatography-mass spectrometry and expected to be hexadecanoic acid. . In conclusion, in this study some of Thai medicinal herbs (N=9/12) had inhibitory effect of the fungal growth . The active inhibitory compound from *Momordica Charantia* Linn. (Bitter Cucumber) and another herbs should be further studied and continued.